SUMMARY

A concept for a integrated approach towards the implementation of the idea of genetic resource conservation is considered, which primarily includes development of biophysical methods for evaluating viability of oocytes, spermatozoids, and embryos. Further, opportunities for obtaining two genetically identical twins for reproduction of rare and vanishing species is discussed.

Литература

1. Szabolcs Nagy, Johannes Jansen, Einko K. Topper, and Barend M. Gadella «A Triple-Stain Flow Cytometric Method to Assess Plasma- and Acrosome-Membrane Integrity of Cryopreserved Bovine Sperm Immediately after Thawing in Presence of Egg-Yolk Particles» BIOLOGY OF REPRODUCTION. 2003, v. 68. P. 1828–1835.
2. S.T. Mortimer «A critical review of the physiological importance and analysis of sperm movement in mammals» Human reproduction update, 1997, v. 3, № 5. P. 403-439.
3. K. Ediz and N.Olgac «Microdynamics of the Piezo-Driven Pipetts in ICSI», IEE TRANSACTIONS BIOMEDICAL ENGINEERING. 2004, (july), v. 51, №7.
4. Boukallel M, Gauthier M, Piat E, Abadie J, Roux C. «Microrobots for in vitro fertilization applications» Cell Mol Biol (Noisy-le-grand). 2004 May; v. 50, № 3. P. 267-274.
5. First NL, Prather RS. «Production of embryos by oocyte cytoplast-blastomere fusion in domestic animals». J Reprod Fertil Suppl. 1991, v.43, pp.245-254.

Г.В. Земков, А.М. Тихомиров, Т.И. Акимочкина
Астраханский Государственный Университет

К БИОТЕХНОЛОГИИ КРИОКОНСЕРВАЦИИ РЕПРОДУКТИВНЫХ КЛЕТОК РЫБ

В результате исчезновения или резкого падения численности популяций ценных промысловых видов рыб и других животных возникла проблема сохранения их генофонда. Одним из перспективных направлений в этой области явились исследования по криоконсервации репродуктивных клеток животных в атмосфере жидкого азота при температуре -196° С. Результаты этих исследований давно используют для хранения образцов эякулята (спермы) самцов сельскохозяйственных животных.

Замораживание репродуктивных клеток самцов рыб с целью их длительного хранения сопряжено с рядом трудностей, связанных с толерантностью клеток в условиях сверхнизкой температуры. В последние 20 лет опубликовано большое количество работ, в которых обсуждаются различные аспекты по выяснению причин резкого снижения качества спермиев после хранения их в жидком азоте.

Основной причиной повреждения или снижения подвижности клеток при замораживании является кристаллизация внутри- и внеклеточной воды. Из материалов опубликованных работ известно, что основные силы повреждения клеток возникают на пути замораживания и дефростации спермы в результате напряжения, возникающего в связи с электрополяризацией и акустической эмиссией в процессе кристаллизации воды.

Несмотря на успешные разработки различных методов криоконсервации репродуктивных клеток рыб, по прежнему продолжаются исследования по совершенствованию технологии хранения биоматериала в условиях сверхнизкой температуры по следующим вопросам: для криозащиты клеток и субклеточных элементов разрабатываются протекторы, составными частями которых являются различные по химической природе вещества (глицерин, диметилсульфоксид, сахароза, этиленгликоль, жирные кислоты и др.).

Все вопросы по криозащите клеточного материала от повреждения в той или иной степени уже в настоящее время успешно решены, о чем свидетельствуют многие опубликованные работы.

В настоящее время, по нашему мнению, необходимо углубление исследований по изучению механизма криоповреждений клеток, что можно схематично представить в следующих направлениях:

- в связи с тем, что известные криопротекторы, включая разработанные нами, позволяют сохранить клетки от деструкции, необходимо определить физико-химические факторы, негативно действующие на подвижность спермиев. С этой целью важно изучить активность ферментов, участвующих в процессах моторики спермиев. Очевидно, с этой целью потребуется изучить энзимы не только спермиев, но и окружающей клетки среды (спермы). В современной научной литературе уже есть

отдельные работы, в которых, в частности, изучали изменение осмотического давления спермы до и после замораживания, содержание белков, характер и структура кристаллов воды при замораживании - дефростации и т.д.;

- следующее направление - это электронная микроскопия спермиев, позволяющая установить степень криоповреждения на субклеточном уровне (митохондрии, рибосомы, ядерная и цитоплазматическая мембраны, хвостовая и апикальная части спермиев);

- третье направление заключается в изучении трансформации макроэргов (АТФ, ГТФ и т.д.).

Перечисленные три направления возможны лишь на основе хорошо оснащенной приборной техникой лаборатории. Изза отсутствия таковых потребуется консолидация научных коллективов для успешного развития исследований, хотя предвидятся трудности авторского права, но, в принципе, эти трудности можно преодолеть на этапе подготовки совместных исследований и патентования. Видимо, необходимо формирование координационного центра на Федеральном уровне.

На базе лаборатории биотехнологий АГУ при сотрудничестве с коллективом института биофизики клетки РАН мы располагаем площадью, технологией и необходимым оборудованием для создания регионального криобанка, где пока намечается хранение образцов репродуктивных клеток осетровых, белорыбицы и других видов животных.

Создание криобанка с целью сохранения генофонда ценных видов рыб и других животных также предполагает исследования по изучению качественных изменений ДНК после воздействия низких и сверхнизких температур. На этапе стандартизации образцов репродуктивных клеток рыб потребуется секвенирование ДНК, что имеет большое значение для потребителей биоматериала, накопленного в криохранилищах. Особенно это важно для предприятий по искусственному воспроизводству осетровых и товарному рыбоводству.

SUMMARY

In the paper the questions of perspective directions of studying of the mechanism of damage of reproductive cells of fish after storage at ultralow temperature are discussed.

The necessity of the morphological analysis of generative cells of fish before freezing at a cellular and subcellular level, and definitions of activity of some enzymes are examined.

УДК 636.2.082.453.52

А.М.Малиновский, Н.М. Решетникова, Т.А. Мороз

ГНУ ВНИИ племенного дела (ВНИИплем)

КРИОУСТОЙЧИВОСТЬ И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ЭМБРИОНОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Криоконсервация зародышей является необходимым этапом в современной технологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота. При существующей технологии криоконсервации пригодными к замораживанию считаются эмбрионы только отличного и хорошего качества, а получившие оценку “удовлетворительно” выбраковывают, несмотря на их генетическую ценность.

В процессе криоконсервации эмбрионы подвергаются различным воздействиям факторов внешней среды, которые приводят к значительным изменениям их функционального и морфологического состояния. Поэтому принято подвергать этой процедуре эмбрионы только отличного и хорошего качества. В то же время при извлечении количество эмбрионов с оценкой “отличный” и “хороший” составляет от 43 до 89 %, а “удовлетворительный” - 17-44%.

Задачей исследований явилось изучение зависимости приживляемости эмбрионов от их качества перед замораживанием и изменениями после оттаивания. Оценку эмбрионов проводили по морфологическим критериям, при этом принимали во внимание снижение балльной оценки эмбриона после оттаивания по сравнению с его оценкой до замораживания. Все эмбрионы за исключением дегенерированных были нехирургически пересажены телкам-реципиентам. Всего был пересажен 851 эмбрион (табл.).